Production of powdered egg yolk enriched with docosa-hexanoic acid, with reduced cholesterol content, for use in health improving diet, by subjecting starting material to extraction with ethanol and adjusting level of acid

Publication number: FR2815228
Publication date: 2002-04-19

Inventor:

CHOURAQUI JEAN

Applicant:

MICRONUTRITION APPLIQUEE BIOTE (FR)

Classification:

- international:

**A23L1/30; A23L1/32; A23L1/30; A23L1/32;** (IPC1-7):

A23L1/32

- European:

A23L1/30C2; A23L1/32; A23L1/32B; A23L1/32F

Application number: FR20000013061 20001012 Priority number(s): FR20000013061 20001012

Report a data error here

#### Abstract of FR2815228

Powdered egg yolk rich in docosa-hexanoic acid (DHA) but with low cholesterol level is obtained by a) subjecting powdered yolk of eggs from birds on DHA-rich diet to extraction of glycerophosphides (GPL) and cholesterol with ethanol, to give product with reduced GPL and cholesterol, and ethanol extract of both, and b) adjusting DHA content of product by addition of GPL. Independent claims are also included for: (1) preparation of powdered egg yolk enriched with docosa-hexanoic acid, with reduced cholesterol content by subjecting powdered egg yolk from eggs produced by birds receiving DHA-enriched food to extraction of GPL and cholesterol with ethanol, in such manner as to produce powdered egg yolk with DHA content at least 2 wt.% per total wt. of lipids and cholesterol content up to 2.25 wt.% per total wt. of egg yolk, (2) powdered egg yolk having content of DHA at least 2 wt.% per total wt. of lipids, cholesterol content up to 2.25 wt.% per total wt. of egg yolk, and wt. ratio of DHA content to eicosa pentaenoic acid (EPA) content at least 8.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

# INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

**PARIS** 

11) No de publication :

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

②1) Nº d'enregistrement national :

00 13061

2 815 228

(51) Int CI7 : A 23 L 1/32

(12)

## **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1** 

ത	D-4-	-1-	-14	_	12.10.00.	
$\boldsymbol{\omega}$	vate	ae	aepot	:	12.10.00.	

(30) Priorité :

(71) Demandeur(s): LABORATOIRE DE MICRONUTRI-TION APPLIQUEE BIOTECHNOLOGIES S.A.S. Société par actions simplifiée — FR.

Date de mise à la disposition du public de la demande : 19.04.02 Bulletin 02/16.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : Se reporter à la fin du présent fascicule

Références à d'autres documents nationaux apparentés :

(72) Inventeur(s): CHOURAQUI JEAN.

73 Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s): BREVALEX.

PROCEDE DE PREPARATION D'UNE POUDRE DE JAUNE D'OEUF ENRICHIE EN ACIDE DOCOSAHEXAENOIQUE (DHA), A TAUX REDUIT EN CHOLESTEROL, ET LES POUDRES OBTENUES.

L'invention concerne un procédé de préparation d'une poudre de jaune d'oeuf enrichie en acide docosahexaénoïque (DHA) et appauvrie en cholestérol, comprenant les étapes suivantes:

- a) soumettre une poudre de jaune d'oeuf provenant d'oeufs d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA à une extraction des glycérophospholipides (GPL) et du cholestérol au moyen d'éthanol pour obtenir une poudre de jaune d'oeuf appauvrie en GPL et en cholestérol, et une solution éthanolique contenant des GPL et du cholestérol, et

 - b) ajuster la teneur en DHA de la poudre obtenue dans l'étape a) en lui ajoutant des glycérophospholipides. La teneur en DHA est de préférence égale ou supérieure à 2 % en masse des lipides totaux.

La teneur en cholestérol est de préférence égale ou inférieure à 2, 25 % en masse de la poudre de jaune d'oeuf.

R 2 815 228 - A1

1

PROCEDE DE PREPARATION D'UNE POUDRE DE JAUNE D'ŒUF ENRICHIE EN ACIDE DOCOSAHEXAENOÏQUE (DHA), A TAUX REDUIT EN CHOLESTEROL, ET LES POUDRES OBTENUES.

## DESCRIPTION

5

10

20

25

# Domaine technique

La présente invention a pour objet un procédé de préparation d'une poudre de jaune d'œuf enrichie en acide docosahexaénoïque (DHA) et appauvrie cholestérol.

Des poudres de jaune d'œuf à taux réduit de cholestérol, enrichies en DHA présentent un grand intérêt pour l'alimentation car elles permettent d'améliorer les apports en DHA tout en diminuant l'apport en cholestérol. En effet, on sait que les 15 acides gras polyinsaturés oméga-3 améliorent le rapport des lipides de haute densité sur les lipides de basse densité du sang. Aussi, du point de vue des maladies cardiovasculaires, la présence d'acides gras polyinsaturés oméga-3 dans les produits alimentaires est souhaitable et on peut la conseiller. En revanche, la présence de cholestérol à forte teneur est néfaste car elle accroît le risque de maladie cardiovasculaire (artériosclérose). Par ailleurs, comme on a trouvé que le DHA présente une meilleure biodisponibilité sous la forme de glycérophospholipide (GPL), ce qui est le cas dans les lipides de l'œuf de poule, cette particularité fait de la poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA une source très intéressante pour l'alimentation.

## Etat de la technique antérieure

L'obtention d'œufs de volatiles enrichis en DHA a déjà fait l'objet de nombreuses recherches et on a trouvé que les meilleurs taux d'enrichissement étaient obtenus lorsqu'on ajoute à l'alimentation des volatiles de l'huile de poisson, comme il est décrit dans FR-A-2 749 133[1], US-A-5 012 761[2], WO-A-98/06276[3] et FR-A-2 747 883[4].

Bien que ce mode d'alimentation des volatiles donne une teneur légèrement réduite en cholestérol dans les œufs, il serait souhaitable de diminuer encore le taux de cholestérol des œufs pour obtenir une poudre de jaune d'œuf contenant encore moins de cholestérol.

Pour extraire le cholestérol du jaune d'œuf, 15 on connaît des procédés d'extraction par un fluide supercritique tel que CO2, comme il est décrit dans EP-A-0 426 425[5] ou par du propane liquide comme il est décrit dans US-A-5 616 359[6]. D'autres procédés d'élimination des stérols par complexation 20 absorption sont décrits dans FR-A-2 626 145[7], WO-A-94/05166[8] et US-A-5 063 077[9].

Une autre technique pour réduire le taux de cholestérol dans des œufs, décrite dans US-A-5 948 463[10], consiste à remplacer le cholestérol par une huile alimentaire végétale.

Ainsi, les techniques connues pour réduire la teneur en cholestérol des œufs ont l'inconvénient de nécessiter l'emploi d'agents spécifiques et/ou d'être d'une mise en œuvre délicate.

## Exposé de l'invention

10

15

25

30

La présente invention a précisément pour objet un procédé de préparation d'une poudre de jaune d'œuf appauvrie en cholestérol et enrichie en acide docosahexaénoïque (DHA), qui est plus facile à mettre en œuvre, et qui permet de plus un contrôle aisé des teneurs en cholestérol et en DHA de la poudre de jaune d'œuf obtenue.

Selon l'invention, le procédé de préparation d'une poudre de jaune d'œuf appauvrie en cholestérol et enrichie en acide docosahexaénoïque (DHA) , comprend les étapes suivantes :

- a) soumettre une poudre de jaune d'œuf provenant d'œufs d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA à une extraction des glycérophospholipides (GPL) et du cholestérol au moyen d'éthanol donnant une poudre de jaune d'œuf appauvrie en GPL et en cholestérol, et une solution éthanolique contenant des GPL et du cholestérol, et
- b) ajuster la teneur en DHA de la poudre obtenue dans l'étape a) en lui ajoutant des glycérophospholipides.

Dans ce procédé, on part d'une poudre de jaune d'œuf déjà enrichie en DHA car elle provient d'œufs d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA.

Cette alimentation correspond à l'alimentation habituelle de ces oiseaux mais on y ajoute de l'huile de poisson, en particulier de l'huile de thon, ce qui permet d'obtenir dans les œufs un rapport du DHA à l'acide eicosapentaénoïque (EPA) supérieur à 8, par exemple de 15. L'obtention d'un tel rapport est particulièrement intéressante car on sait que trop de

EPA par rapport au DHA conduit à une inactivation des plaquettes sanguines concernées dans la coagulation. Aussi, l'obtention de poudre de jaune d'œuf présentant un rapport DHA/EPA supérieur à 8 est un avantage certain.

5

10

15

20

25

Bien entendu, on peut utiliser dans l'invention de la poudre de jaune d'œuf provenant d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA par d'autres moyens, par exemple par addition à leur nourriture habituelle d'autres huiles de poissons et/ou d'autres huiles végétales.

première étape du procédé de Dans la l'invention, on extrait les glycérophospholipides GPL et le cholestérol au moyen d'éthanol et on peut taux d'extraction des contrôler le GPL du réglant de façon appropriée cholestérol en conditions d'extraction, en particulier la température, le temps de contact, le volume d'éthanol utilisé par gramme de poudre de jaune d'œuf, et le degré de l'éthanol.

Généralement, on réalise l'extraction à des températures allant de 5°C à 60°C, de préférence à la température ambiante, en utilisant un temps de contact de 1 à 60 minutes avec un rapport de l'éthanol (en volume) à la poudre de jaune d'œuf (en masse) de 1 à  $10 \ \ell/kg$ .

L'éthanol utilisé présente de préférence un degré de 85 à 96°.

Comme on le verra dans les exemples donnés ci-après, le choix des conditions d'extraction permet de moduler les teneurs en DHA, en GPL et en cholestérol de la poudre et de les adapter au but recherché.

Dans ce procédé, le choix de l'éthanol est particulièrement intéressant car on a remarqué que le cholestérol est soluble dans l'éthanol en présence de phospholipides, car ceux-ci jouent le rôle de cosolvant.

De préférence, on réalise l'extraction en plusieurs stades, c'est-à-dire que l'on met en contact tout d'abord la poudre de jaune d'œuf avec un certain volume d'éthanol, on sépare la poudre de la solution éthanolique, et on met de nouveau en contact la poudre récupérée avec de l'éthanol frais, ce qui permet d'extraire une quantité supplémentaire de cholestérol et de GPL. Cette extraction peut être réalisée dans des réacteurs travaillant de façon discontinue ou bien continue, en mettant en contact, sous agitation, la poudre de jaune d'œuf avec l'éthanol et en séparant la solution éthanolique de la poudre par décantation, filtration ou bien centrifugation.

Selon un premier mode de mise en œuvre du procédé de l'invention, on ajuste la teneur en DHA de la poudre obtenue dans l'étape a) en lui ajoutant une poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA.

L'addition de cette poudre permet d'augmenter le taux de DHA mais elle contribue aussi à augmenter la teneur en cholestérol du produit obtenu. Aussi, il est important de bien choisir les quantités ajoutées pour obtenir les teneurs voulues en DHA et en cholestérol. Généralement, la poudre de jaune d'œuf ajoutée est identique à la poudre de jaune d'œuf de départ. Bien entendu, on pourrait aussi utiliser une autre poudre de jaune d'œuf plus enrichie en DHA que la poudre de départ.

La teneur préférée en DHA est une teneur égale ou supérieure à 2 % en poids des lipides totaux de la poudre de jaune d'œuf. La teneur préférée en cholestérol est une teneur inférieure ou égale à 2,25 % en poids de la poudre de jaune d'œuf.

Ces objectifs peuvent être atteints en ajoutant généralement à la poudre ayant été soumise à l'extraction par l'éthanol, une quantité de poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA représentant 25 à 50 % en masse du mélange des deux poudres.

10

15

20

25

Dans ce premier mode de mise en œuvre du procédé, on réalise de préférence une extraction poussée du cholestérol et des GPL de la poudre de départ, pour réduire le taux de cholestérol d'au moins 50 %.

Ceci peut être obtenu en réalisant l'extraction à une température de 5°C à 60°C, pendant 1 à 60 minutes, avec de l'éthanol à 85-96°, en utilisant un rapport de l'éthanol (en volume) à la poudre de jaune d'œuf (en masse) de 1 à 10 l/kg.

Selon un second mode de mise en œuvre du procédé de l'invention, on réalise dans la première étape a) une extraction poussée des GPL et du cholestérol, puis on ajuste la teneur en DHA de la poudre de jaune d'œuf obtenue dans l'étape a) en lui ajoutant au moins une partie des GPL débarrassés de la majorité de leur cholestérol, présents dans la solution éthanolique obtenue dans l'étape a).

Cette extraction poussée correspond par 30 exemple à l'extraction d'au moins 50 % du cholestérol comme précédemment.

Pour obtenir ce résultat on peut réaliser l'extraction à une température de 15 à  $30^{\circ}$ C, pendant 1 à 60 minutes, avec de l'éthanol à  $85-96^{\circ}$ , en utilisant un rapport (en volume) de l'éthanol à la poudre de jaune d'œuf (en masse) de 1 à  $10 \ \ell/kg$ .

5

10

15

20

25

30

On obtient donc à la suite de cette étape d'extraction une solution éthanolique contenant des GPL et du cholestérol ainsi qu'un peu de triglycérides, on récupère au moins une partie des GPL présents dans cette solution par des techniques de séparation appropriées, et on les réincorpore ensuite dans la poudre de jaune d'œuf obtenue à la suite de l'étape a).

Cette séparation peut être effectuée par perméation au travers d'une membrane. On peut utiliser en particulier une membrane de latex qui permet d'assurer la séparation des GPL du cholestérol et des triglycérides, les GPL restant en solution éthanolique.

Selon l'invention, on peut aussi régler les conditions d'extraction des GPL et du cholestérol par l'éthanol pour obtenir directement une poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA, à teneur réduite en cholestérol.

Dans ce cas, le procédé consiste à soumettre une poudre de jaune d'œuf provenant d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA à une extraction des glycérophospholipides et du cholestérol au moyen d'éthanol de façon à obtenir une poudre de jaune d'œuf ayant une teneur en DHA égale ou supérieure à 2% en masse des lipides totaux et une teneur en cholestérol égale ou inférieure à 2,25% en masse de la poudre de jaune d'œuf.

L'invention a encore pour objet une poudre de jaune d'œuf ayant une teneur en DHA égale ou supérieure

à 2% en masse des lipides totaux et une teneur en cholestérol égale ou inférieure à 2,25 % en masse de la poudre de jaune d'œuf, dans laquelle le rapport en masse de l'acide docosahexaénoïque (DHA) à l'acide eicosapentaénoïque (EPA) est égal ou supérieur à 8.

De préférence le rapport DHA/EPA est égal ou supérieur à 10.

De préférence aussi la teneur en cholestérol est égale ou inférieure à 2 % en masse.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture de la description qui suit, d'exemples de réalisation, donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif.

## 15 Exposé détaillé des modes de réalisation

#### Exemple 1

20

Cet exemple illustre l'influence de l'alimentation des poules sur la teneur en DHA et en EPA des œufs obtenus.

Dans cet exemple, on ajoute à l'alimentation normale des poules 2 % d'huile de thon. Après 20 jours d'alimentation, on détermine les teneurs en DHA et en EPA des acides gras des lipides totaux des œufs, et

- 25 l'on obtient les résultats suivants :
  - teneur en DHA des acides gras des lipides totaux de l'œuf : 6,3 %,
  - rapport en masse DHA/EPA : 15  $\pm$  5,
- teneur en DHA des acides gras des glycérophospholipides (GPL) de l'œuf : 18 %, et
  - rapport DHA/EPA dans les GPL : 20.

On remarque ainsi que l'alimentation des poules avec de l'huile de thon permet d'obtenir une teneur en DHA dans les œufs très élevée.

## 5 Exemple 2

Dans cet exemple, on réalise l'extraction du cholestérol et des GPL à partir d'une poudre de jaune d'œuf PJOE ayant la composition suivante, exprimée en mg par gramme de poudre de jaune d'œuf :

- 10 lipides totaux LT: 540 mg/g,
  - glycérophospholipides GPL : 215 mg/g,
  - cholestérol : 30 mg/g,
  - DHA: 18 mg/g, et
  - triglycérides TG : 295 mg/g.
- On effectue l'extraction à 5°C, en utilisant de l'éthanol à 85° et un rapport éthanol/PJOE (V/m) de 2,5 l/kg. Le temps de contact est de 20 minutes, et on réalise deux extractions successives dans les mêmes conditions. On détermine les teneurs en cholestérol, en GPL, en TG, en DHA et en EPA des solutions éthanoliques récupérées après chaque extraction. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 1.

On remarque ainsi que les conditions d'extraction ne sont pas suffisantes pour obtenir une poudre de jaune d'œuf à teneur suffisamment réduite en cholestérol, moins de 20 % du cholestérol ayant été extrait.

#### Exemple 3

Dans cet exemple, on suit le même mode opératoire que dans l'exemple 2 pour extraire le

cholestérol et les GPL d'une poudre de jaune d'œuf identique à celle de l'exemple 2, mais on utilise de l'éthanol EtOH à 90°, un rapport EtOH/PJOE (V/m) de  $3 \ell/kg$  et on opère à 15°C. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 2.

Dans ces conditions, on extrait beaucoup plus de cholestérol (53%) et de GPL ainsi que de DHA. Aussi, pour obtenir une poudre de jaune d'œuf ayant un taux de DHA satisfaisant, il est nécessaire d'ajuster ensuite la teneur en DHA par ajout de poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA ou de GPL récupérés et purifiés à partir de la solution éthanolique d'extraction.

#### Exemple 4

5

10

Dans cet exemple, on suit le même mode opératoire que dans l'exemple 2 pour extraire le cholestérol et les GPL, mais on utilise de l'éthanol à 95°, un rapport EtOH/PJOE (V/m ) de 3,5 l/kg et un temps de contact de 30 minutes, à 25°C.Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 3.

Dans ce cas , on extrait encore davantage de cholestérol (68%) mais également de GPL et de DHA. Aussi il est nécessaire comme précédemment d'ajuster la teneur en DHA de la poudre par addition de GPL ou de poudre enrichie en DHA.

## Exemple 5

25

30

Cet exemple illustre la séparation du cholestérol des GPL et des triglycérides présents dans la solution éthanolique d'extraction.

Dans cet exemple, on part d'une solution éthanolique ayant la composition donnée dans le tableau

4 (Départ intérieur). On purifie cette solution par perméation à travers une membrane de latex ayant une densité de 50g/m2.

On fait circuler la solution d'un côté de la membrane contre 100 volumes d'éthanol à 95°, pendant 60 heures à 25 °C. le volume de la solution est de 0,1 ml/cm2.Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 4.

On remarque ainsi que l'on obtient une solution éthanolique ne contenant pratiquement plus de cholestérol et de triglycérides, le pourcentage de cholestérol ayant migré par perméation étant de 85%.

## Exemple 6

15 Cet exemple illustre l'addition de poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA à une poudre de jaune d'œuf ayant subi une extraction par de l'éthanol dans des conditions analogues à celles de l'exemple 3.

Dans cet exemple, on ajoute à une poudre de jaune d'œuf C ayant la composition donnée dans le tableau 5 après avoir subi l'extraction par l'éthanol 50, 40, 30, ou 25% en masse du mélange total, d'une poudre de jaune d'œuf B enrichie en DHA ayant la composition donnée dans le tableau 5. On obtient des poudres de jaune d'œuf enrichies en DHA ayant des taux réduits de cholestérol comme il ressort du tableau 5.

A titre comparatif on a donné dans le tableau 5 la composition d'une poudre de jaune d'œuf standard non enrichie en DHA.

On remarque ainsi que le procédé de l'invention est très intéressant car il permet

d'adapter très facilement les caractéristiques de la poudre de jaune d'œuf au but recherché.

#### Exemple 7

- Cet exemple illustre l'addition de GPL séparés d'une solution éthanolique d'extraction comme dans l'exemple 5, à une poudre de jaune d'œuf à taux de cholestérol réduit, ayant subi une extraction par l'éthanol comme dans l'exemple 3.
- Dans cet exemple, on ajoute à la poudre de jaune d'œuf C, 5%, 10% ou 15% de GPL purifiés de l'exemple 5 sous forme de solution éthanolique puis on sèche pour éliminer l'éthanol.
- Le tableau 6 illustre les compositions en 15 masse des poudres de départ et des mélanges obtenus.

On remarque que l'addition de GPL permet également d'ajuster facilement la teneur en DHA de la poudre de jaune d'œuf obtenue.

## 20 <u>Références</u> citées

- (1) FR-A-2 749 133,
- (2) US-A-5 012 761,
- (3) WO-A-98/06276
- (4) FR-A-2 747 883
- 25 (5) EP-A-0 426 425
  - (6) US-A-5 616 359
  - (7) FR-A-2 626 145
  - (8) WO-A-94/05166
  - (9) US-A-5 063 077
- 30 (10 US-A-5 948 463

TABLEAU 1 : Quantités extraites en mg/g de poudre de jaune d'œuf

	Extraction 1	Extraction 2	Total
Chol	2,2	3,3	5,5
GPL	35,8	29,7	65,6
TG	32,8	16,1	48,9
DHA	2,7	2,1	4,8
EPA	0,19	0,16	0,35

TABLEAU 2 : Quantités extraites en mg/g de poudre de jaune d'œuf

	Extraction 1	Extraction 2	Total
Chol	9,9	6,0	15,9
GPL	109,5	73,0	182,5
TG	34,1	25,8	59,9
DHA	7,1	3,9	11,0
EPA	0,49	0,22	0,71

TABLEAU 3 : Quantités extraites en mg/g de poudre de jaune d'œuf

	Extraction 1	Extraction 2	Total
Chol	13,7	6,9	20,6
GPL	168,6	34,0	202,6
TG	34,1	25,8	59,9
DHA	11,7	3,2	14,9
EPA	0,75	0,24	0,99

5

TABLEAU 4

	Dép	art	Arr	ivée
	Intérieur	Extérieur	Intérieur	Extérieur
GPL	1,82 g	0	1,80 g	0,002
Chol	0,152 g	0	0,022 g	0,130 g
TG	0,86 g	0	0,08 g	0,78 g
DHA *	8,6 %	0	10,6 %	

10 \* DHA : pourcentage exprimé en masse % des acides gras des lipides totaux

Tableau 5 : Composition en masse de la PJOE (en masse % de la poudre)

	(A) Standard, non enrichie en DHA	(B) Enrichie en DHA avant extraction	(C) Enrichie en DHA après extraction	mélange 50/50 de (B) + (C)	mélange 40/60 de (B) + (C)	mélange 30/70 de (B) + (C)	mélange 25/75 de (B) + (C)
LT 1)	64	54	48	5.1	50,5	50	49,5
GPL 2)	18	21	7	14	12,6	11,2	10,5
Chol 3)	3	E .	1,4	2,2	2,0	1,9	1,8
DHA	8'0	1,8	1,2	1,5	1,4	1,4	1,35
EPA	0,15	0,18	0,11	0,15	0,14	0,13	0,13

1) LT : lipides totaux

<sup>2)</sup> GPL : glycérophospholipides

<sup>3)</sup> Chol: cholestérol

Tableau 6 : Composition en masse de la PJOE (en masse % de la poudre)

	(A) Standard, non enrichie en DHA	(B) Enrichie en DHA avant extraction	(C) Enrichie en DHA après extraction	mélange de (C) + 5 % de GPL purifiés	mélange de (C) + 10 % de GPL purifiés	mélange de (C) + 15 % de GPL purifiés
LT 1)	64	54	48	56,2	58,2	09
GPL 2)	18	21	. L	11,4	15,4	19,1
Chol 3)	E .	E	1,4	1,4	1,4	1,3
DHA	8,0	1,8	1,2	1,5	1,7	2
EPA	0,15	0,18	0,11	0,13	0,16	0,19

1) LT : lipides totaux

<sup>2)</sup> GPL : glycérophospholipides

<sup>3)</sup> Chol : cholestérol

#### REVENDICATIONS

- 1. Procédé de préparation d'une poudre de jaune d'œuf enrichie en acide docosahexaénoïque (DHA)
  5 et appauvrie en cholestérol, comprenant les étapes suivantes:
- a) soumettre une poudre de jaune d'œuf provenant d'œufs d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA à une extraction des glycérophospholipides (GPL) et du cholestérol au moyen d'éthanol donnant une poudre de jaune d'œuf appauvrie en GPL et en cholestérol, et une solution éthanolique contenant des GPL et du cholestérol, et
- b)ajuster la teneur en DHA de la poudre obtenue dans 15 l'étape a) en lui ajoutant des glycérophospholipides.
  - 2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on ajuste la teneur en DHA de la poudre obtenue dans l'étape a) en lui ajoutant de la poudre de jaune d'œuf enrichie en DHA.
  - 3. Procédé selon la revendication 2, dans lequel la poudre de jaune d'œuf ajoutée est identique à la poudre de jaune d'œuf de départ.

25

20

4. Procédé selon la revendication 2 ou 3, dans lequel la quantité de poudre de jaune d'œuf ajoutée est telle qu'elle représente 25 à 50 % en masse du mélange des deux poudres.

 Procédé selon l'une quelconque revendications 1 à 4, dans lequel on réalise l'extraction de l'étape a) à une température de 5 à 60°C, pendant 1 à 60 minutes, avec de l'éthanol à 85-96°, en utilisant un rapport de l'éthanol (en volume) à la poudre de jaune d'œuf (en masse)de 1 à 10  $\ell/kg$ .

- 6. Procédé selon la revendication 1, dans lequel, dans l'étape b), on ajuste la teneur en DHA de la poudre de jaune d'œuf en lui ajoutant au moins une partie des GPL présents dans la solution éthanolique obtenue dans l'étape a).
- 7. Procédé selon la revendication 6, dans lequel on réalise l'étape a) de façon à extraire au moins 50 % du cholestérol.
- 8. Procédé selon la revendication 7, dans lequel on réalise l'extraction à une température de 15 à 30°C, pendant 1 à 60 minutes, avec de l'éthanol à 85-96°, en utilisant un rapport de l'éthanol (en volume) à la poudre de jaune d'œuf (en masse) de 1 à 10 l/kg.
- 9. Procédé selon la revendication 6, dans lequel on sépare le cholestérol des GPL présents dans la solution éthanolique par perméation au travers d'une membrane.
- 10. Procédé selon la revendication 9, dans lequel la membrane est une membrane de latex.

- 11. Procédé de préparation d'une poudre de jaune d'œuf enrichie en acide docosahexaénoïque (DHA) et appauvrie en cholestérol, qui consiste à soumettre une poudre de jaune d'œuf provenant d'oiseaux ayant eu une alimentation enrichie en DHA à une extraction des glycérophospholipides et du cholestérol au moyen d'éthanol de façon à obtenir une poudre de jaune d'œuf ayant une teneur en DHA égale ou supérieure à 2% en masse des lipides totaux et une teneur en cholestérol égale ou inférieure à 2,25% en masse de la poudre de jaune d'œuf.
- 12. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans lequel la poudre de jaune d'œuf de départ est obtenue à partir d'œufs d'oiseaux dans l'alimentation desquels on a ajouté de l'huile de poisson.
  - 13. Procédé selon la revendication 12, dans lequel l'huile de poisson est de l'huile de thon.

20

5

- 14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans lequel les oiseaux sont des poules.
- 15. Poudre de jaune d'œuf ayant une teneur en DHA égale ou supérieure à 2% en masse des lipides totaux et une teneur en cholestérol égale ou inférieure à 2,25 % en masse de la poudre de jaune d'œuf, dans laquelle le rapport en masse de l'acide docosahexaénoïque (DHA) à l'acide eicosapentaénoïque (EPA) est égal où supérieur à 8.

- 16. Poudre de jaune d'œuf selon la revendication 15 , dans laquelle le rapport DHA/EPA est égal ou supérieur à 10.
- 17. Poudre de jaune d'œuf selon la revendication 16, ayant une teneur en cholestérol égale ou inférieure à 2 % en masse.



# RAPPORT DE RECHERCHE **PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

établi sur la base des dernières revendications

FA 593690 FR 0013061

DOCL	JMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS	Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'Invention par l'INPI
atégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		•
A	FR 2 773 484 A (MOREAU PIERRE) 16 juillet 1999 (1999-07-16) * revendications 6,7,9 * * page 2, ligne 14-30 * * page 3, ligne 4-7 * * page 4, ligne 19-34 *	1-17	A23L1/32
D,A	FR 2 749 133 A (MOREAU PIERRE) 5 décembre 1997 (1997-12-05) * revendications 1,3-7 * * page 1, ligne 5-9 * * page 4, ligne 25-40 * * page 7, ligne 34 - page 13, ligne 15 * * page 14, ligne 36 - page 15, ligne 9 *	1-17	N
D,A	FR 2 752 381 A (MOREAU PIERRE) 20 février 1998 (1998-02-20) * revendications 1,2,5,6; exemple 1 * * page 2, ligne 18-20 * * page 4, ligne 9-18 * * page 9, ligne 27-40 * * page 13, ligne 38 - page 14, ligne 36 * * page 16, ligne 9-18 *	1-17	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7) A23L
	US 5 012 761 A (OH SUK Y) 7 mai 1991 (1991-05-07) * revendications 1,2; tableau 5 * * colonne 2, ligne 34-54 * * colonne 6, ligne 47 - colonne 7, ligne 20 * * colonne 8, ligne 38 - colonne 9, ligne 11 * * colonne 16, ligne 9-20 * * colonne 20, ligne 62 - colonne 21, ligne 35 *	1-17	
	Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
	31 juillet 2001	Tall	gren, A

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

X : particulièrement pertinent à lui seul
 Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
 A : arrière-plan technologique
 O : divulgation non-écrîte
 P : document Intercalaire

T: théorie ou principe à la base de l'invention
 E: document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publlé qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
 D: cité dans la demande

L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant



# RAPPORT DE RECHERCHE **PRÉLIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche N° d'enregistrement national

FA 593690 FR 0013061

DOCL	IMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS	Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
atégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	, ,	
A	WO 97 26804 A (ABBOTT LAB) 31 juillet 1997 (1997-07-31) * revendications 1,2,5,6,9,11,23-26; exemples 1,3,714 * * page 12, ligne 18-29 - page 13, ligne 26 * * page 14, ligne 28 - page 16, ligne 13 *	1-17	
1	US 5 112 956 A (TANG PAMELA S ET AL) 12 mai 1992 (1992-05-12) * exemple 5 *	1-17	
			. +
			DOMAINES TECHNIQUES
			RECHERCHÉS (Int.CL.7)
8			*
	•		•
	- A		
	Date d'achèvernent de la recherche		Examinateur
C	31 juillet 2001  ATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS T: théorie ou princip		gren, A

- A: arrière-plan technologique
   C: divulgation non-écrite
   P: document intercalaire

- de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande
- L : cité pour d'autres raisons
- &: membre de la même famille, document correspondant